

VU Research Portal

Whiter shades of grey

Roosendaal, S.D.

2010

document version

Publisher's PDF, also known as Version of record

[Link to publication in VU Research Portal](#)

citation for published version (APA)

Roosendaal, S. D. (2010). *Whiter shades of grey: Clinical relevance of grey matter abnormalities as visualized by MRI in multiple sclerosis*. [PhD-Thesis - Research and graduation internal, Vrije Universiteit Amsterdam].

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal ?

Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

E-mail address:

vuresearchportal.ub@vu.nl



Chapter 6

Summary, general discussion, future perspectives

For the research described in this thesis, we have aimed to further improve the visualization and detection of abnormalities in the cortical and non-neocortical grey matter (GM) in multiple sclerosis (MS), to investigate the relation between white matter (WM) and GM damage, and to study the clinical effects of GM damage.

6.1 | Improved detection of GM abnormalities

Histopathological studies have shown that GM demyelination is common and extensive in MS. [1,2] However, investigation of the clinical correlates of GM damage in MS has been limited by the fact that in vivo visualization of cortical demyelination by standard MRI techniques has been difficult. [3] This difficulty partly comes from the fact that, in contrast to white matter lesions, cortical lesions are non-inflammatory. They lack lymphocyte infiltration, complement deposition and blood-brain barrier leakage. [4-6] Hence, more advanced imaging techniques were applied to improve cortical lesion visualization with MRI. In our center, a multi-slab three-dimensional (3D) double inversion-recovery (DIR) technique was introduced and was shown to enable a five-fold increase of cortical lesions detected, compared with more standard MRI techniques such as T2 and FLAIR. [7] The study described in **chapter 2.1** was conducted to investigate signal and contrast properties of an improved, single-slab version of this 3D-DIR technique, with a substantially reduced acquisition time making it clinically applicable. Its performance in detecting both cortical and WM lesions was compared to other single-slab 3D sequences (FLAIR, T2-and T1-weighted). Images were acquired in 16 MS patients and scored by two independent raters. 3D-DIR showed the highest detection of intracortical and mixed WM-GM lesions, which to a certain extent reflected a better discrimination from juxtacortical lesions. Studies that compared the ability of different MR sequences in detecting cortical lesions previously suggested that part of lesions visible on 3D-T1 sequences are not visualized by 3D-DIR, and that 3D-T1 sequences may thus provide complementary information about GM demyelination. [8-10]

The patients described in the above mentioned study participated in a follow-up study after a median interval of three years (**chapter 2.2**). One of the goals of this second study was to describe the longitudinal behaviour of cortical lesions, as depicted with 3D-DIR. A large majority (91%) of focal cortical

hyperintensities visible in MS patients at baseline were still visible three years later, providing confidence to the consistency and specificity of the DIR findings. Furthermore, we found that the cortical lesion number but not the WM lesion number at follow-up was significantly higher in secondary progressive (SP) than in relapsing-remitting patients, which confirms results of a study with a shorter follow-up duration. [11] This latter finding suggests that focal cortical pathology is more prone to develop during the SP phase of the disease and may even occur (partly) independently from WM lesion accumulation at that stage. It is also consistent with post mortem results, which previously showed that although GM demyelination is already present in RR and acute MS, it becomes much more prominent in the chronic disease stage. [2]

3D-DIR awaits histopathological verification in a post mortem study to reveal the proportion of cortical grey matter lesions that still remains undetected by this technique. Furthermore, it is important to understand what specific property of cortical lesions determines their conspicuity on MRI. Possible clues come from a recent post mortem MRI study from our group (Seewann *et al.*, *submitted*), using conventional T2-weighted and 3D-FLAIR MR sequences (Figure 1). It was shown in this work that cortical lesions that were visible on MRI did not differ from MRI-invisible cortical lesions in terms of underlying histopathology, but that the MRI-visible lesions were simply larger than their invisible counterparts. This suggests that (ultra-)high-field MRI with optimized resolution and signal-to-noise / contrast-to-noise ratios, should be able to detect a larger portion of cortical demyelination. So far, few studies have been performed in which a possible improvement of cortical lesions detection at 7T or even higher field strengths was assessed. Those studies that are available were often limited by a lack of comparison with clinical field strength or with (optimized) histopathology. [12,13]

The results from the two studies described in **chapter 2** signify that the single-slab version of 3D-DIR currently is the most effective technique when aiming to investigate direct effects of focal cortical grey matter lesions on clinical measures; this has been assessed in this thesis and will be further discussed in section 6.3.

6.2 | Detection of hippocampal lesions and implications for the study of memory impairment

Memory impairment is a prominent deficit within the spectrum of cognitive deficits in MS. Pathology of the hippocampus in MS was expected because of this structure's pivotal role in memory function. The study described in **chapter 3.1** used hippocampal tissue samples of MS patients and of non-neurologic controls, which were subsequently immunohistochemically stained for myelin to study the occurrence, extent, and localization of hippocampal lesions. Lesions were found in 15 of the 19 MS cases investigated, were most often mixed intrahippocampal-perihippocampal, and importantly, were more frequent in cases with reported cognitive impairment. As for the localization of the lesions, the cornu ammonis (CA) 1 and the molecular layer of the dentate gyrus were relatively often affected by isolated intrahippocampal lesions, whereas CA2 was always spared from demyelination.

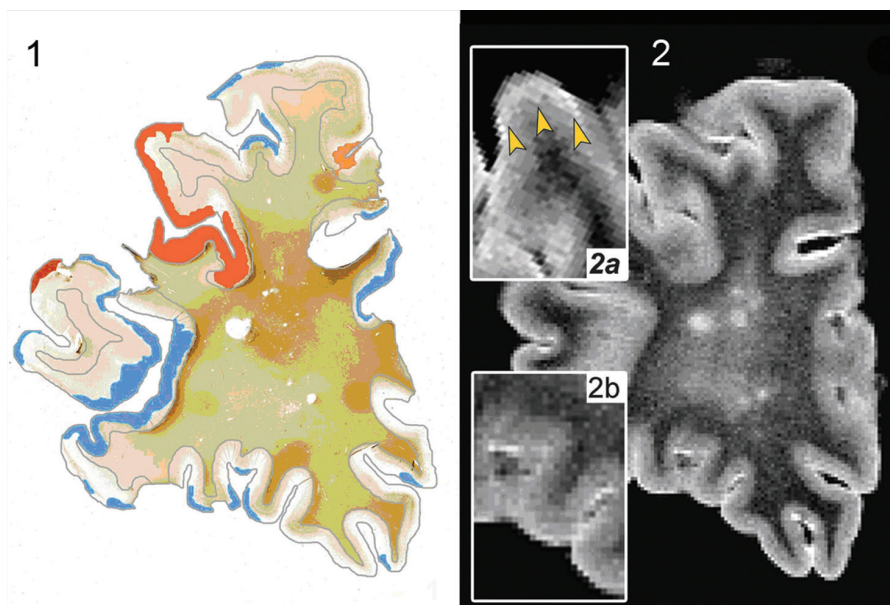


Figure 1 | Comparison between MRI-visible and invisible cortical lesions. **1:** Cortical lesions were assessed on proteolipid-protein stained tissue sections, and marked as visible (red) and invisible (blue) after comparison with the corresponding MRI images. **2:** Corresponding proton density-weighted MR image of the same brain slice. **2a:** MRI-visible lesion. Note the subtle signal intensity increase that could be detected after direct comparison with the stained tissue section. **2b:** MRI invisible lesion.

These latter findings fit with data known from the neurological literature. The CA1 subregion is affected in neurologic conditions such as medial temporal lobe epilepsy, Alzheimer disease, and hypoxic disease. Interestingly, hippocampal atrophy measured in vivo in RRMS patients was also found to predominantly affect CA1. [14] How regional susceptibility for damage within the hippocampus can be explained in MS is not entirely clear, but it may be related to a higher vulnerability of CA1 neurons to glutamate excitotoxicity. Our group is currently investigating this hypothesis and first indications for its plausibility come from observations showing that several neurotransmitter pathways are dysregulated in the MS hippocampus, among which glutamatergic homeostasis (E-J Kooi et al., in progress).

GM demyelination outside the cortex has not been solely observed in the hippocampus, but also in the thalamus and basal ganglia, [15] spinal cord [16] and hypothalamus. [17] Whether demyelination of the GM in all of these areas share a common pathogenic pathway, remains to be clarified.

Ideally, relations between hippocampal pathology and cognitive decline should be investigated in vivo. Therefore, in vivo hippocampal lesion visualization was addressed in **chapter 3.2**, using coronally reformatted 3D-DIR. A surprisingly high number of 14 out of 16 MS patients had at least one hippocampal lesion. Scoring of false-positives was avoided by inclusion of an age-matched control group, as was done for the studies in **chapter 2**. The mean number of hippocampal lesions found was comparable to that found in the post mortem study discussed above, i.e. on average 2 tot 3 lesions per patient. Half of the hippocampal lesions could be retrospectively detected on T2-weighted images, indicating that, as with cortical lesions, 3D-DIR is the technique of choice for detection of MS hippocampal lesions.

6.3 | Clinical effects of GM damage and its relation with WM abnormalities

Various studies have pointed out that neocortical and non-neocortical GM pathology may have significant clinical impact: patients with a (neo)cortical presentation of MS were shown to exhibit severe cognitive disturbances [18] and hippocampal demyelination was associated with cognitive decline (**chapter 2.1**). Apart from these reports, however, little was known concerning the effects of GM damage on cognition in MS.

The great variability in cognitive symptoms between patients is one of the reasons that, compared to physical disability, cognitive decline in MS has less often been the topic of research. Nevertheless, certain functional cognitive systems are consistently and frequently reported to be involved in MS. [19] Because our studies into the effects of GM damage were unprecedented, we included cognitive tests for the most frequently involved cognitive domains in MS, but limited the number of tests to reduce patient burden. We specifically included a test for hippocampal function, the location learning test (LLT) for visuospatial memory. [20] Additionally, executive functioning was assessed for using the Stroop test. [21] Lastly, we included a sensitive, more general measure of cognitive decline, the letter digit substitution test (LDST) for processing speed of information. [22]

In **chapter 2.2**, the potential influence of cortical demyelination as depicted by 3D-DIR on cognition was investigated. Significant relations were found between increased cortical lesion number at follow-up on the one hand and measures of visuospatial memory and processing speed on the other hand. Because a significant association between WM lesion number at follow-up and cognition was additionally found, as well as a correlation between WM lesion numbers and cortical lesion numbers, the effect of cortical lesions on the cognitive measures in our study could not be fully discriminated from the effect exerted by WM lesions. Therefore, a recommendation for future research is to study selected patient groups with discordant GM and WM damage, enabling a greater comprehension of what part of cognitive decline originates from cortical lesions.

Because of the abovementioned difficulties concerning in vivo detection of cortical lesions, MRI studies have frequently investigated the clinical effect of cortical atrophy. Cortical grey matter atrophy was shown to correlate significantly with clinical disability, [23] including cognitive impairment, [24] but these studies were limited because of their relatively small sample size. Therefore, GM and WM atrophy were investigated in a large cohort (N=927) of MS patients (**chapter 4.1**). Regression models were used to investigate GM and WM atrophy and lesion volume information as explanatory variables for physical impairment, as measured with the EDSS, and cognitive impairment, as measured with the paced auditory serial addition task (PASAT) for sustained attention. We found that GM atrophy was the strongest predictor

of both physical disability and cognitive impairment, stronger than the other MRI variables, which emphasizes the clinical relevance of this measure and may have importance for future clinical trial design. Additionally, more research is warranted into the clinicocognitive significance of regional cortical vulnerability, since cortical thickness studies suggested that in particular the temporal and frontal cortical regions are affected. [25]

The finding that atrophy or thinning may have a predilection for certain cortical regions has fuelled the discussion concerning the origination of GM damage. Some researchers have put forward that it arises primarily in the GM, whereas others suggest that GM damage is largely secondary and arises as a result of ongoing damage in the WM. Retrograde neuroaxonal degeneration is a supposed pathway for secondary GM damage, which may arise due to ‘virtual hypoxia’ [26] or glutamate imbalance of WM axons. [27] Although the assumption that GM damage arises secondarily to accumulating WM damage has its merits, MRI and histopathology studies [28] indicate that GM and WM abnormalities may show largely independent patterns. We investigated this particular question in the same large cohort as abovementioned (**chapter 4.1**). Using multiple linear regression, GM atrophy was found to be predicted by T2 lesion volumes. This finding may be an argument for the hypothesis that GM damage results secondarily from damage to WM tracts. We also found in this study that GM atrophy becomes much more prominent in the SP phase as compared to the RR phase, whereas white matter atrophy was similar between different disease phases, confirming histopathological [2] and recent longitudinal in vivo findings in smaller samples. [29]

Our findings, and those of others in smaller patient samples, that GM atrophy predicts disability and accumulates throughout the entire disease, may stimulate the use of this measure in future (clinical) studies. It is therefore important to shed more light on the pathological substrate of GM atrophy. In a histopathological study, [30] neuronal loss was found inside cortical lesions but could not explain the overall cortical thinning that also occurred outside focal lesions, suggesting that part of the thinning may be caused by factors in the normal-appearing GM (NAGM). Unfortunately, little is known about the extent of histopathological abnormalities outside areas of focal cortical demyelination. Future in vivo studies could aim to further understand what is measured with GM atrophy by using 3D-DIR to distinguish the contribution of focal cortical lesions on (regional) cortical volume changes.

The lack of specificity of frequently used MRI measures for WM damage, such as T2 lesion volume and WM atrophy, may also contribute to their incapacity to explain clinical impairment. We therefore used a different quantitative MRI measure, diffusion tensor imaging (DTI), to investigate the attribution of WM damage to cognitive impairment (**chapter 4.2**), in combination with a novel software tool called tract-based spatial statistics (TBSS). This allowed for a data-driven and voxelwise localization of WM damage. Thirty MS patients were compared to 31 age-matched healthy controls and were found to have a lower fractional anisotropy (FA) in a number of brain regions, including in parts of the corpus callosum and in the fornices. The latter may be secondary to damage in the hippocampus, but may also be due to focal demyelination in the fornices, the existence of which has been described previously. [17] Radial diffusivity increases and a less pronounced increase of axial diffusivity were found in regions of reduced FA. The added value of axial and radial diffusivity with regard to histopathological specificity has been suggested by animal research, [31,32] but needs further confirmation in MS patients. Patients in this study showed normal visuospatial memory performance, just-normal attention, and impaired processing speed. The latter was found to be associated with abnormal diffusion measures in the corpus callosum, which shows that at least part of the cognitive decline in MS can be explained by using more advanced MR measures of white matter damage. This is in particular true for cognitive domains that are heavily dependent on communication between distant brain areas and therefore on intact long WM tracts, such as processing speed of information. Nevertheless, many aspects of cognitive decline cannot be fully understood when GM damage is not taken into account.

Properties of the brain that limit effects of damage may be especially dynamic in the early phase of the disease. Possible responses comprise repair of damage, for instance by remyelination; and functional compensation, which involves the use of altered behavioural strategies. A different possible response of the brain is adaptation, which involves recruitment of other cortical brain areas and parallel pathways through synaptic changes and unmasking of latent corticocortical connections. [33] Functional MRI has the potential to depict this adaptive reorganization, and thereby to explain poor relations between measures of structural damage and clinical function. In two studies in this thesis that are discussed below (**chapters 3.3 and 5.1**), functional connectivity

(a measure of inter-regional cortical correlations of neuronal variability) was investigated using fMRI acquired during rest. One of the reasons to study resting state fMRI is because task-related increases of neuronal metabolism are small compared to the total brain metabolism; [34] task-fMRI may therefore only reveal the proverbial tip of the iceberg. Taking brain activity into account that occurs in the absence of external stimulation may thus lead to a better understanding of brain function and adaptation in MS patients. In the first study functional connectivity of an a priori defined region of interest was investigated, whereas in the second study a data-driven analysis was applied.

Our previous research showed that hippocampal demyelination occurs frequently in MS and can be imaged in vivo (**chapters 3.1 & 3.2**). The question arose at what time point and to which extent memory is affected by hippocampal damage. We hypothesized that hippocampal damage may exist without directly leading to impaired memory function, but that functional hippocampal-cortical connectivity may already be altered. Therefore in **chapter 3.3**, functional connectivity of the hippocampus with cortical areas of the brain was compared between 25 MS patients with intact spatial memory function and that of 30 healthy controls. Despite the absence of impaired spatial memory, decreased hippocampal functional connectivity with areas known to be involved in the memory process was found in MS patients, and was associated with occurrence of hippocampal atrophy. This indicates that disturbances of the communication process between the hippocampi and the cortical areas that enhances long-term memory can be already measured, before becoming clinically apparent. Future longitudinal studies are necessary to elucidate how functional connectivity changes and atrophy of the hippocampal memory system are related temporally, and whether these changes indeed predate memory impairment and atrophy. An ongoing study using a declarative memory encoding task shows that cognitively impaired MS patients have reduced brain activation in the right hippocampus and parahippocampal gyrus (Figure 2), and that they have lost increases of brain activation present in cognitively preserved patients (Hulst et al., in progress).

CIS patients are frequently found to have lesions that are asymptomatic, suggesting that part of focal damage can be compensated. That this partly occurs through adaptive reorganization has been indicated by task-fMRI studies in early MS patients. [35] In our most recent study, described in **chapter**

5.1, we questioned whether altered cortical resting state networks, indicative of cortical functional (dys)integrity, can already be found in the early phase of MS. Furthermore, we investigated whether these alterations are related to structural WM and GM damage. This was addressed using an independent component analysis of resting state fMRI data, comparing 14 CIS to 31 RR patients, and both patient groups to 41 healthy controls. CIS patients showed *increased* temporal coherences between brain regions (coactivation) in multiple networks, compared to controls or RR patients. By contrast, GM atrophy and WM diffusivity alterations were only found in RR patients, who showed a lower performance on measures of cognition compared to CIS patients and controls. The network differences found in CIS patients are thus suggestive of early cortical reorganization, but are lost with increasing brain damage and advancing

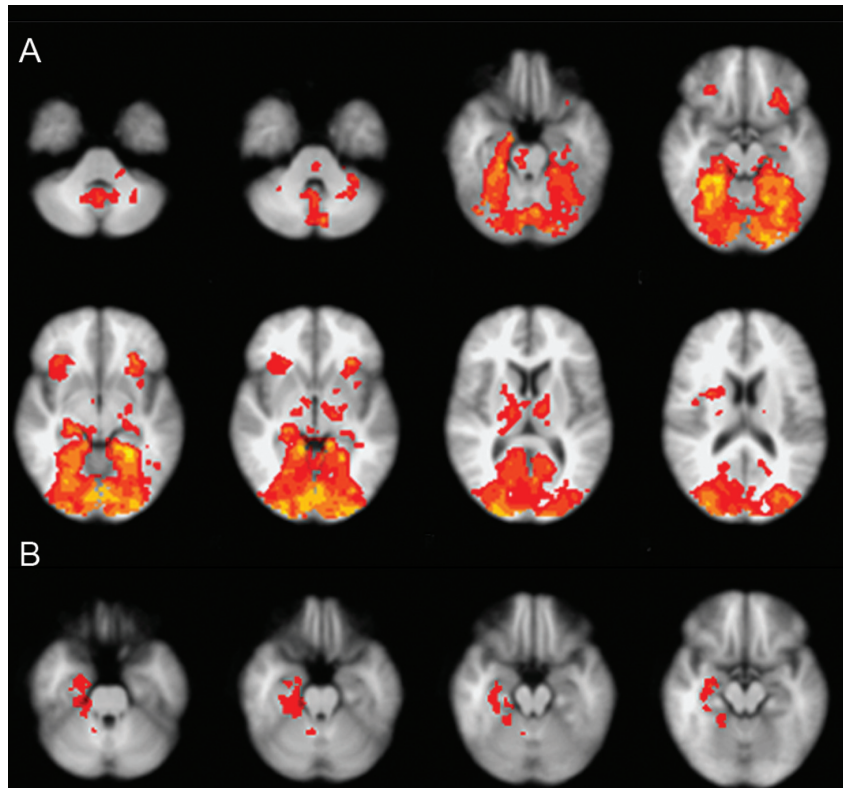


Figure 2 | **A:** The activated ventral and dorsal streams in the control group are shown, connecting the visual cortex and temporoparietal lobes to the hippocampus during encoding of correctly remembered items. **B:** Areas of reduced activation in cognitively impaired MS patients compared to controls are shown (right hippocampus and parahippocampal gyrus).

disability, indicating that cortical reorganization of resting state networks is a finite phenomenon in MS. Approaching clinicocognitive functioning from a residual capacity point of view offers possibilities in terms of rehabilitation and therapeutic strategies, that aim to extend adaptive reorganization (Figure 3).

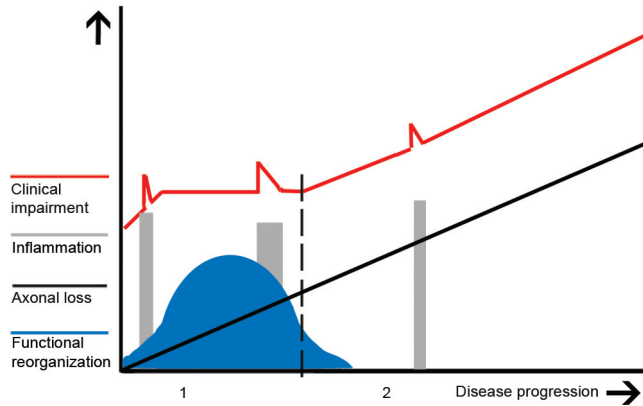


Figure 3 | A schematic representation of the relation between structural damage (accumulating axonal loss) and clinical impairment, which is dynamic and modified by functional reorganization. Our research and that of others indicate that during certain stages of the disease, functional reorganization prevents clinical change (patient group 1; medium amount of damage with high amount of functional reorganization, but little clinical disability). When the functional reserve is exhausted, clinical impairment builds up at a faster rate (patient group 2; high amount of damage, little amount of functional reorganization and high clinical disability). If therapies are able to lengthen the time frame of functional reorganization, the blue box will expand and the dashed vertical line representing the border between group 1 and 2 will shift to the right. Patients will then be longer in group 1 and exhibit little clinical change for a longer time period.

Advanced connectivity measures may offer new insights in adaptive reorganization. In an ongoing study (Schoonheim et al, in progress), we are applying a graph analysis to both magnetoencephalography (MEG) and fMRI data, comparing MS patients to healthy controls. Although the results are still preliminary, they suggest that graph analysis connectivity measures are gender-dependently altered in MS.

6.4 | Future perspectives

The results of the studies described in this thesis demonstrate that, although cortical lesion detection may still further improve by the implementation of (ultra-)high-field MRI (Figure 4), 3D-DIR remains the method of choice when studying GM lesions at conventional field strengths. Possible limitations for future research are that DIR acquisition protocols differ between centers, and that DIR images are not easy to interpret, which may lead to interrater variability. Preliminary results from a recent study, conducted with images and raters from different centers participating in the MAGNIMS study group, indicate that prospective data acquisition is necessary to assure sufficient image quality and homogeneity. Furthermore, before DIR can be applied in future multicenter pharmaceutical trials investigating possible effects of neuroprotective agents on limiting GM damage, agreement is needed on GM lesion scoring. MAGNIMS guidelines for cortical lesion scoring will be proposed in an upcoming paper (Geurts et al., in progress).

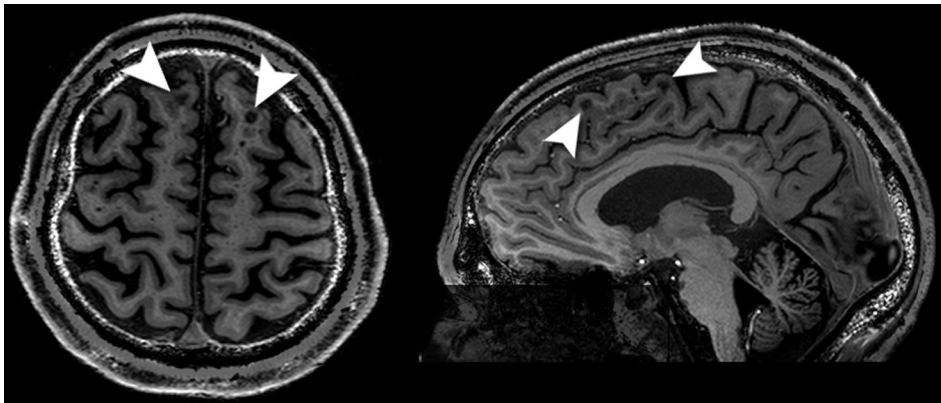


Figure 4 | High-resolution axial and sagittal 3D T1-weighted magnetization prepared rapid acquisition gradient-echo (MPRAGE) images from an MS patient, acquired at ultra-high-field strength (de Graaf *et al.*, in collaboration with the 7 Tesla group UMC Utrecht, in progress). Arrowheads depict juxtacortical and mixed white matter-grey matter lesions. Currently, a combination of different 3D sequences, as well as quantitative sequences are investigated at 7 Tesla, and compared to images from the same patients acquired at lower field strengths.

The spatiotemporal relation between GM and WM abnormalities remains to be further elucidated. A previous study in PP patients showed that only a minority of focal measures of WM tract damage were related to nearby areas of GM atrophy. [36] Future studies should elaborate on this finding by relating measures of structural WM connectivity to focal cortical atrophy or reduced cortical thickness in relapse-onset MS.

Another question that needs to be assessed by future research is what is exactly measured with quantitative MRI of the cortex. In particular, how and to what extent measures of regional cortical atrophy are influenced by damage in focal cortical lesions should be further investigated, for example by combining cortical lesion probability maps based on 3D-DIR with regional cortical atrophy maps.

Although clearly some cognitive domains are more often impacted by the disease than other domains, cognitive test performance varies considerably between patients, and can even fluctuate due to fatigue or temporary clinical relapses within individual patients. It is therefore difficult to investigate cognitive decline as a whole in MS. Specific cognitive deficits in MS might be best understood in terms of 'functional systems'. In this thesis, the cognition focus was largely placed on the hippocampal memory system. Important for future research into cognitive decline, is the availability of a cognitive test battery that can be assessed within limited time, but that provides more details with regard to the cognitive domains most frequently involved in MS. A complication arises from the fact that cognitive functions may influence one another to various extent. The relative dependence of cognitive functions that are 'cortex-dependent' on neuropsychological aspects that may more WM-related, such as processing speed and fatigue, needs to be explored. Furthermore, the results of the studies presented in this thesis suggest that models attempting to explain cognitive decline in MS should account for both WM and GM lesions (using T1, T2 and DIR), as well as for abnormalities in the 'normal-appearing' WM (using quantitative MRI such as DTI) and GM brain tissue (using atrophy measures).

In this thesis, hippocampal damage and decreased hippocampal functional connectivity was found to be apparent even before memory decline. In another study, CIS patients showed adaptive connectivity alterations in resting state networks that have been linked to different cognitive domains. Our knowledge

of the reserve capacity of the brain in MS can be improved by investigating the process of functional reorganization over time in longitudinal studies. The relative contributions of different adaptive mechanisms are likely to change across the disease. At what point do pathological changes reach a threshold, or in other words, when is the reserve capacity exhausted? Does memory decline subsequently set in? Can the period in which the effects of damage to clinical function are limited by reorganization, be extended by influencing the adaptive process through pharmacotherapy or other interventions? These are questions that need to be addressed by future studies.

6.5 | Conclusions

Advances in knowledge gained by the studies described in this thesis

- Single-slab 3D-DIR allows for the highest number of cortical lesions to be detected in vivo at conventional field strength
- Cortical lesions can be imaged reliably over time, and accumulate in particular in the SP phase
- Hippocampal lesions occur frequently in MS patients and can be imaged in vivo with 3D-DIR
- Cortical lesions are related with cognitive decline
- When measured with DTI, localized WM damage can be related to impaired processing speed
- Physical and cognitive impairment can be better explained by GM atrophy than by WM atrophy or T2 lesion volume
- Functional connectivity of the hippocampus is already decreased in patients with still intact memory
- Cortical reorganization of several resting state networks exist in CIS patients and may limit the clinical expression of damage early in the disease

This knowledge may act as a starting point for future research in MS into:

- The spatiotemporal relation between WM and GM abnormalities
- Effects of neuroprotective agents on limiting the development of GM lesions
- How reorganization of specific networks can be influenced
- How the interplay between damage, repair and adaptation influences cognitive function

REFERENCES

1. Bo L, Vedeler CA, Nyland HI, Trapp BD, Mork SJ. Subpial demyelination in the cerebral cortex of multiple sclerosis patients. *J Neuropathol Exp Neurol* 2003; 62(7):723-732.
2. Kutzelnigg A, Lucchinetti CF, Stadelmann C, Bruck W, Rauschka H, Bergmann M et al. Cortical demyelination and diffuse white matter injury in multiple sclerosis. *Brain* 2005; 128(Pt 11):2705-2712.
3. Geurts JJ, Bo L, Pouwels PJ, Castelijns JA, Polman CH, Barkhof F. Cortical lesions in multiple sclerosis: combined postmortem MR imaging and histopathology. *AJNR Am J Neuroradiol* 2005; 26(3):572-577.
4. Bo L, Vedeler CA, Nyland H, Trapp BD, Mork SJ. Intracortical multiple sclerosis lesions are not associated with increased lymphocyte infiltration. *Mult Scler* 2003; 9(4):323-331.
5. Brink BP, Veerhuis R, Breij EC, van der Valk P, Dijkstra CD, Bo L. The pathology of multiple sclerosis is location-dependent: no significant complement activation is detected in purely cortical lesions. *J Neuropathol Exp Neurol* 2005; 64(2):147-155.
6. van Horssen J, Brink BP, de Vries HE, van der Valk P, Bo L. The blood-brain barrier in cortical multiple sclerosis lesions. *J Neuropathol Exp Neurol* 2007; 66(4):321-328.
7. Geurts JJ, Pouwels PJ, Uitdehaag BM, Polman CH, Barkhof F, Castelijns JA. Intracortical lesions in multiple sclerosis: improved detection with 3D double inversion-recovery MR imaging. *Radiology* 2005; 236(1):254-260.
8. Nelson F, Poonawalla AH, Hou P, Huang F, Wolinsky JS, Narayana PA. Improved identification of intracortical lesions in multiple sclerosis with phase-sensitive inversion recovery in combination with fast double inversion recovery MR imaging. *AJNR Am J Neuroradiol* 2007; 28(9):1645-1649.
9. Nelson F, Poonawalla A, Hou P, Wolinsky JS, Narayana PA. 3D MPRAGE improves classification of cortical lesions in multiple sclerosis. *Mult Scler* 2008; 14(9):1214-1219.
10. Bagnato F, Butman JA, Gupta S, Calabrese M, Pezawas L, Ohayon JM et al. In vivo detection of cortical plaques by MR imaging in patients with multiple sclerosis. *AJNR Am J Neuroradiol* 2006; 27(10):2161-2167.
11. Calabrese M, Filippi M, Rovaris M, Mattisi I, Bernardi V, Atzori M et al. Morphology and evolution of cortical lesions in multiple sclerosis. A longitudinal MRI study. *Neuroimage* 2008; 42(4):1324-1328.
12. Mainiero C, Benner T, Radding A, van der Kouwe A, Jensen R, Rosen BR et al. In vivo imaging of cortical pathology in multiple sclerosis using ultra-high field MRI. *Neurology* 2009; 73(12):941-948.
13. Kangarlou A, Bourekas EC, Ray-Chaudhury A, Rammohan KW. Cerebral cortical lesions in multiple sclerosis detected by MR imaging at 8 Tesla. *AJNR Am J Neuroradiol* 2007; 28(2):262-266.
14. Sicotte NL, Kern KC, Giesser BS, Arshanapalli A, Schultz A, Montag M et al. Regional hippocampal atrophy in multiple sclerosis. *Brain* 2008; 131(Pt 4):1134-1141.
15. Vercellino M, Plano F, Votta B, Mutani R, Giordana MT, Cavalla P. Grey matter pathology in multiple sclerosis. *J Neuropathol Exp Neurol* 2005; 64(12):1101-1107.
16. Gilmore CP, Bo L, Owens T, Lowe J, Esiri MM, Evangelou N. Spinal cord gray matter demyelination in multiple sclerosis-a novel pattern of residual plaque morphology. *Brain Pathol* 2006; 16(3):202-208.
17. Huitinga I, De Groot CJ, van der Valk P, Kamphorst W, Tilders FJ, Swaab DF. Hypothalamic lesions in multiple sclerosis. *J Neuropathol Exp Neurol* 2001; 60(12):1208-1218.

18. Zarei M. Clinical characteristics of cortical multiple sclerosis. *J Neurol Sci* 2006; 245(1-2):53-58.
19. Chiaravalloti ND, DeLuca J. Cognitive impairment in multiple sclerosis. *Lancet Neurol* 2008; 7(12):1139-1151.
20. Bucks RS, Willison JR. Development and validation of the location learning test (LLT): A test of visuo-spatial learning designed for use with older adults and in dementia. *Clinical Neuropsychologist* 1997; 11(3):273-286.
21. Stroop R. Studies of interference in serial verbal reactions. *Journal of Experimental Psychology* 1935; 18:643-662.
22. Jolles J, Houx PJ, van Boxtel MPJ, Ponds RWHM. *The Maastricht Aging Study: Determinants of cognitive aging*. Maastricht: Neuropsych Publishers, 1995.
23. De Stefano N, Matthews PM, Filippi M, Agosta F, De Luca M, Bartolozzi ML et al. Evidence of early cortical atrophy in MS: relevance to white matter changes and disability. *Neurology* 2003; 60(7):1157-1162.
24. Amato MP, Portaccio E, Goretti B, Zipoli V, Battaglini M, Bartolozzi ML et al. Association of neocortical volume changes with cognitive deterioration in relapsing-remitting multiple sclerosis. *Arch Neurol* 2007; 64(8):1157-1161.
25. Charil A, Dagher A, Lerch JP, Zijdenbos AP, Worsley KJ, Evans AC. Focal cortical atrophy in multiple sclerosis: relation to lesion load and disability. *Neuroimage* 2007; 34(2):509-517.
26. Stys PK. Axonal degeneration in multiple sclerosis: is it time for neuroprotective strategies? *Ann Neurol* 2004; 55(5):601-603.
27. Geurts JJ, Wolswijk G, Bo L, van der Valk P, Polman CH, Troost D et al. Altered expression patterns of group I and II metabotropic glutamate receptors in multiple sclerosis. *Brain* 2003; 126(Pt 8):1755-1766.
28. Bo L, Geurts JJ, van der Valk P, Polman C, Barkhof F. Lack of correlation between cortical demyelination and white matter pathologic changes in multiple sclerosis. *Arch Neurol* 2007; 64(1):76-80.
29. Fisher E, Lee JC, Nakamura K, Rudick RA. Gray matter atrophy in multiple sclerosis: a longitudinal study. *Ann Neurol* 2008; 64(3):255-265.
30. Wegner C, Esiri MM, Chance SA, Palace J, Matthews PM. Neocortical neuronal, synaptic, and glial loss in multiple sclerosis. *Neurology* 2006; 67(6):960-967.
31. Song SK, Sun SW, Ju WK, Lin SJ, Cross AH, Neufeld AH. Diffusion tensor imaging detects and differentiates axon and myelin degeneration in mouse optic nerve after retinal ischemia. *Neuroimage* 2003; 20(3):1714-1722.
32. Song SK, Yoshino J, Le TQ, Lin SJ, Sun SW, Cross AH et al. Demyelination increases radial diffusivity in corpus callosum of mouse brain. *Neuroimage* 2005; 26(1):132-140.
33. Matthews PM. Functional Brain Reorganization and Recovery after Injury to White Matter. In: Waxman SG, editor. *Multiple Sclerosis as a Neuronal Disease*. London: Elsevier Academic Press, 2005: 451-466.
34. Raichle ME, Mintun MA. Brain work and brain imaging. *Annu Rev Neurosci* 2006; 29:449-476.
35. Audoin B, Ibarrola D, Ranjeva JP, Confort-Gouny S, Malikova I, Ali-Cherif A et al. Compensatory cortical activation observed by fMRI during a cognitive task at the earliest stage of MS. *Hum Brain Mapp* 2003; 20(2):51-58.

36. Bodini B, Khaleeli Z, Cercignani M, Miller DH, Thompson AJ, Ciccarelli O. Exploring the relationship between white matter and gray matter damage in early primary progressive multiple sclerosis: an in vivo study with TBSS and VBM. *Hum Brain Mapp* 2009; 30(9):2852-2861.

Nederlandse samenvatting

‘Wittere grijs tinten’ Klinische relevantie van afwijkingen in de grijze stof in multiple sclerose, zoals afgebeeld met MRI

Multiple sclerose (MS) is een ziekte die het centrale zenuwstelsel (het brein en het ruggemerg) aantast, meestal jonge mensen treft en vaak ingrijpend is voor hen omdat de ziekte tot chronische invaliditeit leidt. De toenemende schade in het brein en het ruggemerg kan bij patiënten tot diverse klachten leiden, bijvoorbeeld problemen met lopen, een verminderd gevoel, coordinatiestoornissen en incontinentie. Daarnaast worden ook cognitieve klachten frequent gevonden bij MS patiënten, met name het geheugen en de snelheid van het denken zijn vaak aangedaan.

In Nederland zijn er ongeveer 16000 MS patiënten. Meestal (in ongeveer 80% van de gevallen) begint de ziekte met een relapsing-remitting (RR) beloop. Hierbij ontstaan er nieuwe klachten die samengaan met het ontstaan van nieuwe afwijkingen in de hersenen, maar na enige tijd weer (deels) overgaan. Na enkele jaren ontstaat bij deze patiënten een ander beloop, waarbij er ze geleidelijk achteruitgaan. Dit wordt de secundair-progressieve (SP) fase van de ziekte genoemd. Daarnaast zijn er ook patiënten (ongeveer 20%) waarbij de ziekte al na de eerste symptomen een progressief karakter heeft, dit type wordt primair-progressief (PP) genoemd. De oorzaak van MS is nog onbekend, wel is duidelijk dat een combinatie van omgevingsinvloeden en genetische factoren een rol spelen.

Met name kunnen afwijkingen die in de witte stof van de hersenen liggen bij MS goed met MRI worden afgebeeld. Door pathologie studies is bekend dat er in die afwijkingen zich verschillende processen afspelen: ontsteking, afbreken van de beschermende laag rond de zenuwcellen (demyelinisatie) en littekenvorming. In afwijkingen in de grijze stof (GS) van de hersenen (de buitenste laag) komt veel minder ontsteking voor, wat een reden is dat ze minder goed met MRI te zien zijn. Lange tijd werd dan ook gedacht dat MS voornamelijk een ziekte van de witte stof is. Dit denkbeeld moest men verlaten toen duidelijk werd dat afwijkingen in de witte stof alleen niet de symptomen van patiënten konden verklaren.

Opvallend is dat al vroeg in de 20^e eeuw het bestaan van afwijkingen in de GS gesuggereerd. Met de invoering van gevoeliger, immunohistochemische

kleuringen die corticale demyelinisatie beter aantonen is er de laatste decennia meer aandacht voor demyelinisatie in de grijze stof. Inmiddels weten we dat grijze stofschade al aanwezig kan zijn bij mensen die nog maar kort MS hebben, en dat bij sommige patiënten een groot deel van de GS beschadigd kan raken. Het afbeelden van demyelinisatie in de grijze stof met behulp van MRI in levende mensen was lange tijd erg moeilijk, met name omdat deze afwijkingen, in tegenstelling tot afwijkingen in de witte stof, nauwelijks inflammatoir zijn. Er nieuwe MRI technieken ontwikkeld, zoals ‘double inversion-recovery’ (DIR), waarop afwijkingen in de grijze stof beter zijn af te beelden bij levende patiënten. De scan parameters van DIR zijn zo ingesteld dat zowel het signaal van de witte stof als ook dat van de liquor cerebrospinalis onderdrukt worden, waardoor alleen de grijze stof en de afwijkingen in de GS voor het signaal zorgen. In een eerder onderzoek werd gevonden dat er veel meer corticale afwijkingen met DIR gedetecteerd kunnen worden dan met andere, conventionele MRI-technieken.

Het onderzoek beschreven in dit proefschrift had tot doel de detectie van corticale en niet-corticale grijze stofafwijkingen verder te verbeteren, de relatie tussen afwijkingen in de witte stof (WS) en GS te bestuderen, en het klinische effect van GS schade te onderzoeken.

Detectie van corticale en niet-corticale grijze stofafwijkingen

In **hoofdstuk 2.1** wordt een studie beschreven waarin de eigenschappen van een nieuwe versie van DIR, een zogenaamde ‘single-slab 3D-DIR’, met een verbeterde signaal-ruis verhouding en een kortere opnametijd, werden onderzocht. Tevens werd in deze studie het vermogen van deze techniek om corticale lesies af te beelden vergeleken met andere MRI-technieken. Beelden van 16 MS patiënten werden onafhankelijk van elkaar beoordeeld door twee onderzoekers. De uitkomst was dat met 3D-DIR het hoogste aantal lesies in de cortex en lesies die deels in de WS en deels in de cortex gelegen zijn gedetecteerd kon worden. Dezelfde patiënten werden drie jaar later opnieuw onderzocht om te bestuderen hoe corticale lesies zich gedragen over de tijd (**hoofdstuk 2.2**). Er werd gevonden dat van elke tien corticale afwijkingen, er negen nog steeds zichtbaar waren na drie jaar op de 3D-DIR beelden, wat er op wijst dat deze scoringen betrouwbaar zijn. Tevens werd gevonden dat patiënten met een progressief ziekte-type meer corticale afwijkingen hadden dan

relapsing-remitting patiënten, maar niet meer WS afwijkingen. Dit suggereert dat de hoeveelheid corticale pathologie met name in progressieve patiënten sterk toeneemt. De twee studies beschreven in **hoofdstuk 2** tonen aan dat de single-slab versie van 3D-DIR de meest effectieve techniek is om de gevolgen van corticale afwijkingen, met name voor het cognitieve functioneren, voor patiënten te onderzoeken.

Een van de frequentst voorkomende cognitieve problemen bij MS patiënten is een verminderd geheugen. Omdat de hippocampus, een structuur in de hersenen (of beter: twee structuren; een in de linker hersenhelft en een in de rechter), een belangrijke rol speelt bij het geheugen werd het voorkomen van schade in deze structuur bij MS verwacht. In **hoofdstuk 3.1** staat een studie beschreven waarin hippocampus weefsel van overleden MS patiënten en van mensen niet aan een neurologische ziekte overleden, werd onderzocht op de aanwezigheid van demyelinisatie. In 15 van de 19 MS patiënten werden hippocampale afwijkingen gevonden, en ze werden vaker gevonden in patiënten die cognitieve problemen hadden gehad. Om ook hippocampale afwijkingen in levende patiënten te kunnen bestuderen werd de studie in **hoofdstuk 3.2** uitgevoerd. Coronale 3D-DIR beelden van 16 patiënten werden hiervoor onderzocht. Het gemiddelde aantal hippocampale afwijkingen was vergelijkbaar met dat gevonden in de post mortem studie, namelijk twee tot drie afwijkingen per patient. Slechts ongeveer de helft van deze afwijkingen konden met een conventionele MRI-techniek (3D-T2) worden afgebeeld.

Het klinische effect van GS schade en de relatie met WS afwijkingen

Het mogelijke effect van corticale afwijkingen, afgebeeld met 3D-DIR, op cognitie werd onderzocht in de studie in **hoofdstuk 2.2**. Er werd in de patiëntengroep een relatie gevonden tussen het aantal corticale afwijkingen en testen voor geheugen en voor snelheid van informatieverwerking. Er werden echter ook relaties gevonden tussen deze cognitieve testen en het aantal WS afwijkingen, en tussen het aantal WM en corticale afwijkingen. In welke mate corticale afwijkingen exact bijdragen aan cognitieve problemen kon in deze studie daarom niet achterhaald worden.

Een andere manier om GS schade in MS patiënten te bestuderen is door atrofie, oftewel weefselverlies, van de GS te meten. In de studie beschreven in **hoofdstuk 4.1** werden GS en WS atrofie gemeten in een groep van 927 MS

patiënten. Hoe goed deze MRI maten en de grootte van focale WS afwijkingen fysieke en cognitieve problemen konden verklaren werd onderzocht met regressiemodellen. Het bleek dat GS atrofie dit het beste kon, wat de klinische relevantie van deze maat onderstreepte. Verder werd in deze studie onderzocht welke MRI variabelen GS atrofie kunnen verklaren. Dit bleek het volume van WS lesies te zijn, zoals gemeten op T2-gewogen beelden. Tenslotte werd bevestigd in deze studie dat GS atrofie wel, en WS atrofie niet of veel minder toegenomen is in progressieve patiënten in verhouding tot relapsing-remitting patiënten.

Een mogelijke oorzaak voor het onvermogen van WS MRI maten om cognitieve achteruitgang te verklaren kan gelegen zijn in hun gebrek aan specificiteit. Daarom werd in **hoofdstuk 4.2** een andere, meer specifieke, kwantitatieve MRI maat genaamd 'diffusion tensor imaging' (DTI) gebruikt om de bijdrage van WS schade aan cognitieve achteruitgang te bepalen. Dertig MS patiënten werden vergeleken met 31 gezonde proefpersonen, en er werd bij de patiënten schade gevonden in het corpus callosum (de verbinding tussen de beide hersenhelften) en in de fornix (een belangrijke verbinding van de hippocampus), deels gelegen buiten zichtbare WS afwijkingen. Patiënten presteerden slechter op een test voor snelheid van informatieverwerking, wat gerelateerd was aan schade in een gebied in het corpus callosum.

Het brein kan op een beperkt aantal manieren reageren op schade, in een poging toch te blijven functioneren. Naast reparatie van de schade is een mogelijkheid tot adaptatie. Hierbij worden andere hersengebieden en andere netwerken ingezet dan gebruikelijk om een bepaalde taak te vervullen. Met functionele MRI kan adaptatie worden gemeten, en kan daarmee deels de matige relatie tussen MRI maten van structurele schade en testen voor functionele beperking verklaren. In twee studies in dit proefschrift is functionele connectiviteit, die aangeeft in welke mate corticale gebieden *samen* actief of niet-actief zijn, berekend van fMRI beelden vervaardigd zonder dat de proefpersonen een taak uitvoerden. Omdat tijdens een taak de energiebehoefte van het brein maar in een beperkte mate toeneemt, vergeleken met het metabolisme van het brein in rust, is het belangrijk ook eventuele functionele verschillen in rust-toestand tussen MS patienten en gezonde proefpersonen te onderzoeken.

Omdat we op grond van onze eerdere studies wisten dat de hippocampus beschadigd is bij MS patienten, vroegen we ons af in welk stadium hippocampale schade leidt tot geheugenverlies. Daarom is in **hoofdstuk 3.3** de functionele connectiviteit van de hippocampus met andere breingebieden vergeleken tussen 25 MS patienten en 30 gezonde proefpersonen. Ondanks dat de patienten normaal presteerden op een geheugentaak, werd er toch een verminderde functionele connectiviteit bij hen gevonden, en dan met name als er volumeverlies, of atrofie, van de hippocampus aanwezig was. Het lijkt er dus op dat de communicatie tussen de hippocampus en andere delen van het brein al verstoord is voordat dit zich klinisch uit als geheugenproblemen. Of een verminderde functionele connectiviteit daadwerkelijk voorspellend is voor geheugenverlies (en hippocampusatrofie) zal moeten blijken uit eventuele vervolgstudies.

FMRI studies, waarbij een taak moest worden uitgevoerd, lieten andere activatiepatronen zien in het brein van MS patienten, die geacht wordt adaptieve reorganisatie van het brein te weerspiegelen. In de studie beschreven in **hoofdstuk 5.1**, is onderzocht of functionele connectiviteitsveranderingen in rust al aanwezig zijn bij vroege MS patienten. Voor dit doel werden fMRI beelden van 14 patienten met alleen nog maar de eerste klachten die doen vermoeden aan MS (clinically isolated syndrome, CIS) vergeleken met 31 MS patienten met een relapsing-remitting (RR) ziekte type, en van beide groepen met die van gezonde proefpersonen. Een netwerk-analyse liet zien dat de CIS groep verhoogde connectiviteit had tussen corticale gebieden in meerdere netwerken. Daarentegen werden atrofie van de grijze stof en diffusie veranderingen in witte stof alleen gevonden in de RR groep, wat er op wijst dat de netwerkverschillen in CIS patienten suggestief zijn voor vroege corticale reorganisatie, welke vermoedelijk verloren gaat in een later stadium van de ziekte.

Dankwoord

Allereerst wil ik de MS patiënten en de gezonde proefpersonen bedanken die hebben meegedaan aan de verschillende studies, beschreven in dit proefschrift. Daarnaast wil ik alle medewerkers die mij geholpen hebben van het MS Centrum, het Image Analysis Center, en de afdeling Radiologie van het VUmc bedanken. Ik heb op de VU de afgelopen vier jaar met veel plezier gewerkt, niet in de laatste plaats door mijn collega's. Een aantal mensen wil ik hier specifiek noemen.

Mijn *promotor* en *copromotor*, prof.dr. F. Barkhof en dr. J.J.G. Geurts, wil ik bedanken voor de geboden mogelijkheid om onderzoek te doen in een enthousiaste groep, waarin de nieuwste technieken en theorieën beschikbaar waren.

Prof.dr. F. Barkhof, beste Frederik, ik heb veel gehad aan je ideeën, creatieve insteek, en je inzicht in zowel klinische als technische aspecten van het onderzoek naar MS. Daarnaast dank voor de mogelijkheden die je bood tot internationale samenwerking en presentatie van resultaten, dat werkte inspirerend. Dr. J.J.G. Geurts, beste Jeroen, je probeert promovendi echt iets bij te brengen over (neuro)science en je enthousiasme voor hersenonderzoek was erg aanstekelijk. Erg knap vind ik hoe je bij al je verschillende promovendi op verschillende momenten de juiste feedback weet te geven. Ook onze discussies over onderwerpen die niet direct met MS te maken hadden vond ik altijd de moeite waard.

De leden van *de promotiecommissie*:

Dr. O. Ciccarelli, thank you for your helpful comments and fun during congresses, and for taking place in my promotion committee. Prof.dr. P. van der Valk, prof.dr. E.J.A. Scherder, prof.dr. S.A.R.B. Rombouts, dr. H. Vrenken, dr. P.J.W. Pouwels en dr. J. Killestein wil ik bedanken voor het plaatsnemen in de promotiecommissie. Prof.dr. W.J. Niessen en prof.dr. C.H. Polman wil ik bedanken voor het kritisch lezen en beoordelen van mijn proefschrift.

Adviezen en hulp ontving ik gedurende mijn promotietraject, met name in de eerste jaren, behalve van mijn promotor en copromotor, ook van anderen. Dr. H. Vrenken, beste Hugo, je kritische blik was altijd welkom, evenals je hulp bij het gebruik van FSL. Daarnaast vond ik je (taal)grapjes er vaak met kop en schotel boven uitsteken. Dr. P.J.W. Pouwels, beste Petra, je kennis van DIR was erg nuttig, en ook jouw kritische commentaar heb ik altijd gewaardeerd. In het laatste jaar lag mijn kamer vlak bij die van jou, en ik werd altijd erg vrolijk als je lach over de gang schalde. Prof.dr. J.A. Castelijns, beste Jonas, je kennis van de radiologie, alsmede je helicopterview van de wetenschap en van de verschillende journals kwamen altijd erg van pas.

Mijn *kamergenoten* van de afgelopen jaren wil ik bedanken voor de goede sfeer en omdat ze het werken plezierig hebben gemaakt. Dr. A. Minneboo, beste Arjan, je hebt mij in mijn eerste onderzoeksmaanden op een nuchtere manier veel over onderzoek en promoveren geleerd. Het is je daarom vergeven dat je (bijna) mijn cervicale ruggewervels hebt beschadigd in Madrid. Drs. T. Korteweg, beste Tijmen, bedankt voor je introductie in databaseer op de VU en in linux. Je advies om een Mac te kopen was echt goud waard. Ir. W.L. de Graaf, beste Wolter, dankzij jou bleef ik bij met de allerlaatste nieuwtjes en we hadden ondanks het verbouwingslawaai veel lol op onze kamer. Fijn dat je mijn paranimf bent. Daarnaast ken ik weinig mensen die zo behulpzaam zijn als jij. De secretaresses van Jonas, in het bijzonder Karlijn Verduin en Jacqueline Rosiers: ondanks dat de combinatie van wetenschappers en secretaresses op één kamer niet altijd de meest symbiotische is, vond ik het erg gezellig met jullie op de kamer. Drs. M.P.H. Busard, beste Milou, ik vond het leuk om de kamer weer eens te delen met iemand met een klinische achtergrond. Je doet je voorletters eer aan en racet door je studies heen. Drs. M.M. Schoonheim, beste Menno, jij bent een soort kalme grote Maine Coon, wat in een kamer vol onderzoekers nooit verkeerd is. Je bent ook gedreven en enthousiast, en ik heb goede hoop dat ons gave graaf-paper in een mooi blad komt. Drs. H.E. Hulst, beste Hanneke, wij vermaakten ons door elkaar als schietschijf te gebruiken voor (ongeleide) projectielen. Je bent een echte neurowetenschapper, en ik weet zeker dat jij de eerste barbie-professor van Nederland wordt!!

Het hoofd van de *afdeling Radiologie*, prof.dr. C. van Kuijk, wil ik bedanken voor de interesse in mijn onderzoek en voor de mogelijkheid om de opleiding tot radioloog te volgen. Ook wil ik de laboranten, in het bijzonder Ton Schweigmann en Karin Barbiers, bedanken voor de hulp bij het scannen. Daarnaast wil ik de secretaresses en dames van het secretariaat, de balie-medewerksters en de typistes bedanken voor hun ondersteuning. Regina Wijhenke-Rakim, bedankt voor je hulp, het feit dat je altijd in een goed humeur bent, en de marsen en ander snoepgoed!

De *Radiologie-onderzoekers*: dr. B. Moraal, beste Bastiaan, bedankt voor de goede plezierige samenwerking en je hulp bij een aantal artikelen. ‘Kewl’ dat we deze samenwerking voortzetten in de kliniek. Drs. I.J. van den Elskamp, beste Ivo, bedankt voor de leuke tijd en je rare opmerkingen. Dr. I. Sluimer, beste Ingrid, bedankt voor je linux-hulp en je (soms toch wel goedbedoelde volgens mij) sarcasme. Drs. F. Rodjan en drs. M. Binnenwijzend, beste Firazia en Maja, bedankt voor de leuke lunches. Alle leden van de *Grey Matter & Cognition groep*, met o.a. nog niet eerder genoemd drs. E.J. Kooi en drs. A. Seewann (Evert-Jan en Alex), wil ik bedanken voor de gedeelde kennis, nuttige vrijdagochtenden en enkele leuke uitjes (met name het Efteling-uitje was onvergetelijk). Alex, zet hem op met de laatste loodjes, en ik kom nog wel eens een Foster’s bij je drinken! Zeker wil ik ook de *neurologie-MS onderzoeksters (m/v)* bedanken. Drs. M. Sombekke, drs. J. Sonder, dr. F. van der Linden, drs. L.V.A.E. Bosma, drs. A. Seewann, drs. E. Strijbis, drs. L.F. van der Voort, dr. B. Jasperse, dr. M. Vellinga, drs. A. Vennegoor, drs. J. Nielsen: beste Madeleine, Judith, Femke, Libertje, Alex, Eva, Laura, Bas, Machteld, Anke en Jessica, bedankt voor de goede samenwerking en de gezelligheid op congressen. Daarnaast ook dank aan de *MS neurologen* voor hun hulp. Ook *stagiaires* hebben bijgedragen aan dit proefschrift. Drs. Feenstra, beste Heleen, bedankt voor je hulp bij de hippocampus-connectiviteitsstudie. Drs. Schweren, beste Lizanne, ik hoop dat je in de toekomst weer bij ons komt werken. Zet hem op! Dank ook voor de stagiaires die hielpen bij neuropsychologisch onderzoek, in het bijzonder drs. S. (Sjouke) Liem. Drs. Landi, dear Doriana, dobbiamo continuare il nostro progetto di cibo e la scienza, in futuro. De andere twee leden van de ‘2006-2007 EADNI-road trip-crew’, dr. W.J. Henneman en dr. A.A. Gouw, oftewel Wouter

en Alida: bedankt voor het fijne reisgezelschap en de vijf-en-zeventighonderd goedbestede kilometers!

Tevens wil ik dr. Y.D. van der Werf, afdeling Klinische Neurofysiologie, dr. M. Klein, afdeling Neuropsychologie, dr. V. de Groot, afdeling Revalidatie, dr. K.S. Cover, afdeling Fysica en Medische Technologie, dr. D.L. Knol, afdeling Medische Biostatistiek en Epidemiologie en dr. E.J. Sanz-Arigita, afdeling Radiologie, bedanken voor hun hulp. I would like to thank the people participating in the GeneMSa consortium for their help with the study described in chapter 4.1 in this thesis; prof. dr. S. Smith for his help with the study described in chapter 5.1 (and also for creating and distributing FSL); and the people from MNI (especially dr. A. Zijdenbos, dr. C. Lepage and prof.dr. A.C. Evans) for having me over and helping me with cortical thickness measurements, even though this unfortunately did not lead to a paper.

Tenslotte wil ik nog mensen van *buiten het onderzoek* die ik liefheb bedanken. Papa, goed dat je er nog bent. Ik kijk er naar uit om in de zomer met jou bij je huisje aan het IJsselmeer te relaxen. Lydian, Frederik, bedankt voor jullie gezelligheid. Christian en Dora, helaas kunnen jullie niet bij mijn promotie aanwezig zijn. Aan de andere kant maakt dat niet uit, want de reis is immers belangrijker dan de bestemming (of dat slaat op jullie wereldreis of op mijn promotie laat ik in het midden ;-). Oskar, bedankt dat je mij af en toe liet winnen met gamen, stoer dat je ook gaat promoveren en leuk dat je paranimf bent. Jan, Els, Fanny en Arjan, bedankt voor jullie interesse en de fijne afleiding in de vorm van gourmetten en ander lekker eten. Lieve Sabrina, het begon allemaal tijdens ‘Werking van het Zenuwstelsel’, en ik haalde acuut een 3,5 voor dat vak. Je ondersteuning en afleiding tijdens mijn promotietijd pakten beter uit, getuige dit proefschrift. Ik hoop nog veel mooie reizen met je te maken. Veel dank en liefde vooral voor jou.

Biography

Stefan Dirk Roosendaal was born on the 26th of September 1979 in Hoorn, the Netherlands. He graduated secondary school 'RSG' in Enkhuizen in 1997, and subsequently passed the 'propaedeutic exam' in medical biology in 1998 at the VU University in Amsterdam. At the same university, he studied medicine between 1999 and 2006, during which he worked on a research project on distortion product oto-acoustic emissions, at the Audiology department (Professor Festen). After obtaining his medical degree (*cum laude*) in February 2006, he started working on his PhD in the Grey Matter & Cognition Group at the MS Center Amsterdam, with a grant from the Dutch MS Research Foundation. Under the supervision of Professor Barkhof and Dr. Geurts, advanced MRI methods have been applied to study the grey matter in multiple sclerosis, resulting in this thesis. In January 2010, he started residency in diagnostic radiology (Professor van Kuijk) at the VU University Medical Center, Amsterdam.

Bibliography

- **Roosendaal SD**, Moraal B, Vrenken H, Castelijns JA, Pouwels PJ, Barkhof F, Geurts JJG. In vivo MR imaging of hippocampal lesions in multiple sclerosis. *J Magn Reson Imaging* 2008; 27(4):726-731.
- **Roosendaal SD**, Geurts JJ, Vrenken H, Hulst HE, Cover KS, Castelijns JA, Pouwels PJ, Barkhof F. Regional DTI differences in multiple sclerosis patients. *Neuroimage* 2009; 44(4):1397-1403.
- **Roosendaal SD**, Moraal B, Pouwels PJ, Vrenken H, Castelijns JA, Barkhof F, Geurts JJ. Accumulation of cortical lesions in MS: relation with cognitive impairment. *Mult Scler* 2009; 15(6):708-714.
- **Roosendaal SD**, Hulst HE, Feenstra HEM, Vrenken H, Castelijns JA, Pouwels PJW, Barkhof F, Geurts JJG. Structural and functional hippocampal changes in MS patients with intact memory. *Radiology* 2009; in press.
- **Roosendaal SD**, Bendfeldt K, Vrenken H, Polman CH, Borgwardt S, Radue EW, Kappos L, Pelletier D, Hauser SL, Matthews PM, Barkhof F, Geurts JJG. Gray and white matter atrophy in a large cohort of MS patients: relation to MRI parameters and impact on clinical disability. Submitted for publication.
- **Roosendaal SD**, Schoonheim MM, Hulst HE, Sanz-Arigita EJ, Smith SM, Geurts JJG, Barkhof F. Resting state networks change in clinically isolated syndrome. Accepted for publication in *Brain*.
- Moraal B, **Roosendaal SD**, Pouwels PJ, Vrenken H, van Schijndel RA, Meier DS, Guttman CRG, Geurts JJG, Barkhof F. Multi-contrast, isotropic, single-slab 3D MR imaging in multiple sclerosis. *Eur Radiol* 2008; 18(10):2311-2320.

- Schoonheim MM, **Roosendaal SD**, Sanz-Arigita EJ, Hulst HE, Landi D, Geurts JJG, Polman CH, Stam CJ, Barkhof F. Graph analysis of resting state fMRI: gender effect in MS. Submitted for publication.
- Geurts JJ, Bo L, **Roosendaal SD**, Hazes T, Daniels R, Barkhof F, Witter MP, Huitinga I, van der Valk P. Extensive hippocampal demyelination in multiple sclerosis. *J Neuropathol Exp Neurol* 2007; 66(9):819-827.
- Seewann A, Kooi EJ, **Roosendaal SD**, Barkhof F, van der Valk P, Geurts JJ. Translating pathology in multiple sclerosis: the combination of postmortem imaging, histopathology and clinical findings. *Acta Neurol Scand* 2009; 119(6):349-355.
- Boden BH, **Roosendaal SD**, Geurts JJG. MRI van grijze stofafwijkingen bij Multiple Sclerose. GAMMA, vakblad voor radiologisch laboranten 2008.